

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tinjauan Tentang Tanaman Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

Salah satu tanaman obat yang terdapat di Indonesia dan juga yang dikenal oleh masyarakat yaitu sirih hijau (*Piper betle* L.) yang termasuk dalam suatu tanaman obat yang terdapat dari 1000 jenis kelompok. Sirih hijau ini biasanya dapat digunakan sebagai tanaman obat untuk mengatasi bau badan dan mulut, sariawan, mimisan, gatal-gatal dan koreng, dan dapat juga untuk keputihan pada wanita (Suliantari, 2008).

Sirih adalah salah satu tumbuhan yang memiliki berbagai macam jenis untuk bisa dimanfaatkan sebagai pengobatan. Berbagai macam dari bagian tumbuhan sirih (*Piper betle* L.) ini seperti akar, biji, dan daun berpotensi untuk pengobatan, tetapi yang sering digunakan sebagai pengobatan adalah bagian dari daunnya (Damayanti, 2003). Tumbuhan obat berasal dari bahan obat tradisional yang telah banyak digunakan secara turun-temurun. Daun sirih merupakan salah satu tumbuhan yang telah di gunakan sejak jaman dahulu, ada beberapa jenis dari daun sirih yaitu sirih hijau, sirih merah, sirih hitam, sirih kuning, dan sirih perak (Depkes., 1980).

Obat herbal memiliki aktifitas farmakologi yang sangat bergantung dari kandungan fitokimia yang terdapat didalamnya, sehingga membutuhkan standarisasi yang digunakan sebagai untuk memastikan kualitas dari profil fitokimia tersebut dan aktifitas farmakologinya yang konsisten dalam obat herbal tersebut. Beberapa senyawa yang terkandung dalam daun sirih, seperti senyawa fenol yang merupakan kandungan terbanyak pada daun sirih yang digunakan untuk menentukan aktivitas farmakologisnya, sehingga perlu adanya suatu identifikasi untuk melihat adanya profil standar senyawa tersebut (Liang *et al.*, 2004).

##### 2.1.1 Klasifikasi

Tanaman sirih hijau menurut (Mubeen *et al.*, 2014) dapat di klasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Plantae

Divisi : Magnoliophyta  
 Kelas : Magnoliopsida  
 Sub-kelas : Magnoliidae  
 Ordo : Piperales  
 Famili : Piperaceae  
 Genus : Piper  
 Spesies : *Piper betle* L.



**Gambar 2.1** Daun dan bunga *P. betle* L. (Mubeen *et al.*, 2014)

### 2.1.2 Nama Daerah

Beberapa nama daun sirih pada berbagai daerah seperti Ranub (aceh), sereh (Gayo), Belo Batak (karo), Burangir (Mandailing), Cabai (Mentawai), Sirih (Palembang, Minangkabau), Seureuh (Sunda), Sere (Madura), Uwit (Dayak), Nahi (Bima), Malu (Solor), Mokeh (Alor), Mota (Flores), Bido (Bacan) (Depkes, 1989).

### 2.1.3 Morfologi

Daun sirih memiliki ciri-ciri fisik dengan bentuk seperti jantung, ujung meruncing, memiliki tangkai, dengan tumbuh berselang seling, memiliki tekstur kasar jika diraba, dan memiliki aroma khas (aromatis). Daun memiliki panjang sekitar 6-17,5 cm dengan lebar 3,5-10 cm (Putri ZF., 2010). Sirih ini termasuk dari famili piperaceae, dengan tumbuh merambat dan menjalar dan juga memiliki ketinggian mencapai 5-15 m tergantung dari pertumbuhan dan tempat rambatnya.

### 2.1.4 Habitat dan Distribusi Geologis

Tanaman sirih hijau (*Piper betle* L.) tumbuh dengan subur diberbagai wilayah sepanjang asia tropis sampai Afrika timur dan menyebar di seluruh wilayah Indonesia, Malaysia, Thailand, sri lanka, india sampai madagaskar. Tanaman ini tersebar luas di berbagai wilayah Indonesia, seperti pulau jawa, Sumatra, Kalimantan, Sulawesi, maluku dan juga papua (Putri ZF., 2010)

### 2.1.5 Kandungan Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

Daun sirih memiliki wangi yang khas karena adanya beberapa kandungan yang terdapat didalamnya seperti minyak atsiri 1-4,2 %, air, protein, lemak, karbohidrat, kalsium, fosfor, vitamin A B C, yodium, gula dan juga pati. Fenol alam yang dimiliki oleh minyak atsiri mempunyai kandungan untuk pengobatan antiseptik 5 kali lebih kuat dibandingkan dengan fenol biasa (bakterisid dan fungisid) tetapi tidak sporasid. Kandungan minyak atsiri yang terdapat pada daun sirih hampir mencapai 4,2% (Kartasapoetra, 1992).

Beberapa kandungan kimia dari tanaman daun sirih seperti saponin, flavonoid, polifenol, dan minyak atsiri. Kandungan saponin yang terdapat dalam daun sirih dapat digunakan sebagai antimikroba. Senyawa tersebut akan bekerja dengan merusak membran sitoplasma dan akan membunuh sel. Kandungan flavonoid yang terdapat di dalam tanaman ini juga dapat bekerja dengan mendenaturasi protein sel bakteri dan dapat merusak membrane sel dan tidak dapat diperbaiki seperti semula (Aiello, 2012).

### 2.1.6 Manfaat Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

Salah satu tanaman obat yang terdapat di Indonesia dan juga yang dikenal oleh masyarakat yaitu sirih hijau (*Piper betle* L.) yang termasuk dalam suatu tanaman obat yang terdapat dari 1000 jenis kelompok. Sirih hijau ini biasanya dapat digunakan sebagai tanaman obat untuk mengatasi bau badan dan mulut, sariawan, mimisan, gatal-gatal dan koreng, dan dapat juga untuk keputihan pada wanita (Suliantari, 2008). Tanaman daun sirih dapat dimanfaatkan untuk anti sariawan, antibatuk, adstringensia, dan juga bisa sebagai antiseptik (Aiello, 2012).

Tanaman daun sirih yang digunakan dalam pengobatan modern dapat bermanfaat sebagai adstringensia, diuretika dan antiinflamasi, sebagai bahan obat umumnya tanaman daun sirih ini dibuat dalam bentuk infusa dengan dosis 6% sampai 15% (Kartasapoetra, 1992; Moeljanto & Mulyono 2003; Syukur & Hermani 2002).

### 2.1.7 Aktivitas *Piper Betle* L. sebagai Antibakteri

Daun sirih memiliki kandungan minyak atsiri hampir sebanyak 4,2% (Kartasapoetra, 1992), diantaranya terdapat senyawa fenil propanoid dan tanin. Senyawa fenil propanoid ini memiliki sifat sebagai antimikroba dan anti jamur

yang kuat, juga dapat menghambat pertumbuhan dari berbagai jenis bakteri seperti, *Salmonella* sp, *Klebsiella*, *Pasteurella*, dan dapat membunuh *Candida albicans* (Reveny, 2011). Minyak Atsiri yang terkandung juga aktif terhadap *Escherichia coli*, *Posiodomonas auruginosa*, *Streptococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* dan pirogen *Streptococcus* (Arambewela *et al.*, 2005).

Suliantari mengemukakan bahwa pada penelitiannya dengan memperoleh ekstrak daun sirih hijau menggunakan pelarut etanol memiliki aktivitas antibakteri terhadap beberapa Gram positif dan Gram negatif terutama terhadap *Escherichia coli*, yang didapatkan hasil menggunakan pelarut etanol dapat menghambat pertumbuhan sebesar 14 mm dan untuk konsentration minimum penghambatan (*Minimum Inhibitory Concentration*) diperoleh sebesar 1%. Ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* L.) memiliki pengaruh untuk dapat menghambat pertumbuhan *Escherichia coli* menggunakan metode difusi disk diperoleh hasil pada konsentrasi 2,5%, 5% dan 10% dengan daya hambat sebesar 10,00; 9,42; dan 10,57 mm. Pada ekstrak etanol daun sirih hijau juga dapat menghambat bakteri *S.aureus* dengan kategori sedang. Senyawa fenol memiliki mekanisme agen antibakteri dengan berperan sebagai toksin pada protoplasma yang dapat merusak dan menembus dinding serta mengendapkan protein sel bakteri.

## 2.2 Bakteri *Shigella dysenteriae*

*Shigella dysenteriae* merupakan suatu spesies dari bakteri *shigella* yang terdapat di daerah negara tropis, bakteri tersebut merupakan suatu bakteri pathogen usus yang dikenal juga umumnya sebagai suatu penyakit disentri. Infeksi dari bakteri *Shigella dysenteriae* biasanya disebabkan dari berbagai macam komponen misalnya dari makanan atau air yang telah terkontaminasi bakteri tersebut. Penyakit yang disebabkan oleh bakteri ini yang dikenal juga sebagai penyakit disentri dapat berlangsung lama dan juga mungkin bisa menyebabkan kematian pada penderita anak-anak maupun usia lanjut. Infeksi yang di sebabkan oleh bakteri ini juga dapat mengakibatkan beberapa reaksi yang terdapat di syaraf susunan pusat seperti meningismus (Mandal *et al*, 2006).

*Shigella dysenteriae* adalah salah satu bakteri yang banyak menyebabkan terjadinya disentri di Indonesia. Setiap tahun, dapat diperkirakan ada 164,7 juta kasus yang disebabkan karena adanya infeksi diare yang disebabkan karena



adanya kuman *shigella*, terutama terjadi di negara berkembang (Victoria *et al.*, 2000). Hosseini menyebutkan bahwa infeksi ini terjadi pada seluruh dunia, diantaranya 1,1 juta jiwa telah meninggal per tahunnya, dengan korban yang terbanyak dari kalangan anak-anak usia dibawah 5 tahun (Hosseini *et al.*, 2007).

*S. dysenteriae* merupakan golongan dari eneterobacter yaitu anggota flora usus normal, tetapi umumnya tidak menimbulkan penyakit. Bakteri ini dapat menjadi pathogen apabila bakteri ini berada di luar usus, yang bukan merupakan lokasi tempatnya dimana bukan di lokasi flora normal yang jarang terdapat disana (Soeliongan *et al.*, 2013).

*Shigella* merupakan suatu penyebab penyakit seperti diare berdarah akut (disentri). Tetapi *Shigella dysenteriae* berbeda dengan serogroup *shigella* lainnya, sebab bakteri ini dapat menyebabkan epidemik besar dan disentri yang dapat berlangsung lama, apabila penderita mengalami resistensi antimikroba dan juga memiliki penyakit lainnya dapat berakibat fatal pada suatu infeksi serogroup *shigella* lainnya (Jawetz *et al.*, 2008). Disentri dapat disebabkan dari berbagai macam tetapi biasanya terdapat dua hal yang dapat menyebabkan disentri yaitu disentri basiler yang diperoleh dari basil dan yang kedua yaitu disentri amoeba yang diperoleh adanya suatu parasit *entamoeba histolytica*, tetapi pada kasus disentri *Shigella sp* merupakan penyebab terbanyak (Haryadi, 2012).

*Shigella dysenteriae* dapat membuat eksotoksin yang bisa mempengaruhi saluran pencernaan dan susunan saraf pusat. Eksotoksin ialah suatu protein yang memiliki sifat antigenik yaitu dapat merangsang produksi antitoksin. Suatu aktivitas yang memiliki sifat toksin ini dapat menyebabkan penderita mengalami diare yang encer, selanjutnya mengakibatkan disentri lebih lanjut seperti dapat disertai dengan darah dan nanah (Jawetz *et al.*, 1996).

Upaya yang telah dilakukan sampai sejauh ini untuk pengobatan disentri yang diakibatkan oleh bakteri *S. dysenteriae* hanya dapat terbatas pada antibiotik. Antibiotik ini dapat memberikan keuntungan untuk manusia tetapi juga menyebkan kerugian atau dampak negatif seperti bakteri yang dapat mampu mempertahankan diri maka dari itu akan sulit untuk dihilangkan (Winarsih *et al.*, 2010). Menurut jawetz , *S.dysenteriae* memiliki suatu resistensi dari beberapa antibiotik seperti tetrasiklin, ampisilin, dan siprofloksasin. Antibiotik ini

digunakan dalam jangka panjang dan apabila dosis yang diberikan tidak tepat maka akan mengganggu fungsi dari kinerja pada organ ginjal, jantung, dan hati (Jawetz *et al.*, 1996).

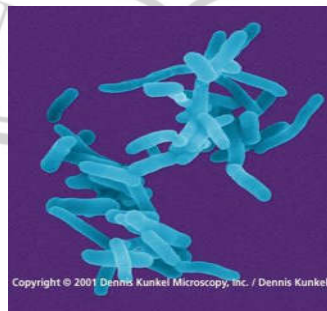
Menurut (Wahyuningsih., 2010), orang-orang yang menggunakan antibiotik dapat menyebabkan jantung berdebar-debar, detak jantung yang abnormal, dan dapat menyebabkan gangguan hati seperti penyakit kuning. Maka, perlu ada pengembangan untuk pengobatan yang diolah dari bahan nabati, diharapkan upaya ini dapat menghambat berkembang biaknya bakteri *S. dysenteriae* yang lebih efektif, efisien, dan aman untuk digunakan (Wahyuningsih M, 2010).

### 2.2.1 Klasifikasi Bakteri

*Shigella* adalah suatu bakteri yang tidak dapat bergerak, merupakan gram negatif dan bersifat fakultatif anaerobik, dapat menghasilkan asam namun tidak dapat menghasilkan gas. *Shigella* memiliki habitat alamiah yang terbatas pada saluran pencernaan manusia juga pada primate lainnya, beberapa dari jumlah spesies tersebut dapat menyebabkan disentri basiler (Kurniasih, 2014).

Klasifikasi:

Kingdom	: Bacteria
Phylum	: Proteobacteria
Class	: Gamma Proteobacteria
Order	: Enterobacteriales
Family	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Shigella</i>
Species	: <i>Shigella dysenteriae</i>



**Gambar 2.2** Bakteri *Shigella dysenteriae* (Dennis kunkel, 2001)

### 2.2.2 Morfologi Bakteri

Bakteri *Shigella* ini memiliki batang yang ramping, tidak memiliki kapsul, tidak dapat bergerak, tidak membentuk spora, dan juga merupakan gram negatif. Pada bentuk cocobasil mengakibatkan terjadinya biakan muda (Brooks dkk., 2001). *Shigella* merupakan fakultatif anaerob tetapi tumbuh secara baik pada suasana aerob. Bakteri ini sering terdapat pada pembenihan diferensial disebabkan oleh tidak mampunya meragikan laktosa (Shrotriya, 2015). Susunan antigen pada *Shigella* sangat kompleks. Mempunyai bentuk tumpang tindih yang banyak pada sifat serologik pada bermacam-macam spesies dan kuman ini sebagian besar memiliki antigen somatik O yang juga dimiliki pada kuman enterik lainnya. *Shigella* yang memiliki suatu antigen somatik O merupakan lipopolisakarida. Ketergantungannya pada polisakarida memberikan kekhususan terhadap serologiknya. Memiliki hampir 40 jenis serotip. Klasifikasi bakteri *shigella* ini dapat dilihat dari sifat-sifat biokimia dan antigenik (Shrotriya, 2015).

### 2.2.3 Sifat biakan

*Shigella* memiliki sifat fakultatif anaerob dan juga dapat mampu tumbuh dengan sangat baik secara aerob. Koloni *shigella* mempunyai bentuk yang konveks, bulat, juga transparan memiliki tepi yang utuh dan dapat menghasilkan diameter sekitar 1-2 mm pada 24 jam (Gibson, 1996). *Shigella* merupakan suatu bakteri yang mempunyai beberapa ciri antara lain berbentuk seperti batang pendek dan tipis, merupakan Gram negatif, tidak memiliki motil dan flagel, tidak berkapsul, dan juga tidak berbentuk spora (Lampel dan Maurelli, 2003). Bakteri *Shigella dysenteriae* dapat berkembang biak dengan cara pembelahan biner, yaitu suatu pembelahan pada sifat sel anak yang menghasilkan akan memiliki sifat yang sama pula pada sel induknya. Pembelahan biner memiliki kemiripan suatu mitosis pada sel eukariot. Perbedaannya, pada pembelahan biner pada sel bakteri, serabut spindle dan kromosom tidak dilibatkan dalam proses tersebut. Terdapat tiga fase pada pembelahan biner, yaitu sebagai berikut:

1. Fase pertama, sitoplasma dibelah dari sekat yang tumbuh lurus.
2. Fase kedua, pertumbuhan sekat akan diikuti dengan tumbuhnya dinding yang melintang.
3. Fase ketiga, memisahkannya kedua sel anak yang identik. Suatu bakteri yang akan

segera terpisah dan melepas sama sekali. Begitupun sebaliknya, suatu bakteri yang akan tetap bergandengan setelah melewati proses pembelahan, bakteri tersebut ialah bentuk koloni (Nygren dkk, 2012).

Pada situasi yang normal bakteri mampu melakukan proses pembelahan pada setiap 20 menit sekali. Apabila proses pembelahan tersebut berlangsung satu jam, maka dapat menghasilkan sebanyak delapan anakan sel. Namun, pada pembelahan bakteri memiliki beberapa faktor penghambat proses pembelahan tersebut seperti kurangnya makanan, suhu yang tidak sesuai, adanya hasil ekskresi yang dapat meracuni bakteri, dan juga terdapat organisme pemangsa bakteri tersebut. Apabila bakteri ini tidak memiliki suatu faktor yang dapat menghambat pertumbuhan maupun pembelahan sel, maka bumi akan dipenuhi dengan bakteri yang dengan mudahnya berkembang biak (Brooks dkk, 2001).

#### **2.2.4 Sifat Pertumbuhan**

Pada semua jenis bakteri *Shigella* mampu memfermentasikan glukosa. Tetapi pada *Shigella sonnei* tidak dapat memfermentasikan laktosa. Kemampuan yang tidak dapat untuk memfermentasikan laktosa ini dapat membedakan *Shigella* pada medium diferensial. *Shigella* dapat membentuk suatu asam dari karbohidrat akan tetapi jarang menghasilkan gas. Organisme ini dapat dibedakan menjadi dua bagian, yaitu organisme yang memfermentasikan mannitol dan juga tidak mampu memfermentasikan mannitol (Nygren dkk, 2012).

#### **2.2.5 Fisiologi Bakteri**

Pewarnaan sifat pada pertumbuhannya yaitu aerob dan juga fakultatif anaerob, pH pertumbuhan 6,4-7,8 dengan suhu pertumbuhan yang optimum yaitu 37° C tetapi pada *S. sonnei* dapat tumbuh pada suhu 45°C. Mempunyai sifat biokimia yang khas yaitu memiliki hasil yang negatif pada reaksi adonitol tidak dapat membentuk gas dalam proses fermentasi glukosa, tidak membentuk H<sub>2</sub>S terkecuali pada *S.flexneri*, memberikan hasil negatif terhadap sitrat, DNase, lisin, fenilalanin, sukrosa, urease, VP, mannitol, laktosa secara lambat, xylosa, dan negatif pada test motilitas. Beberapa sifat yang dimiliki pada koloni kuman diantaranya kecil, halus dan tidak berwarna (Lampel & Maurelli, 2003).

### 2.2.6 Toksin

*Shigella sp* memiliki toksin yang disebut Shigatoksin dan memberikan multiplikasi tanpa invasi yang terdapat pada jejenum kemudian memproduksi toksin. Toksin ini yang akan berikatan pada reseptor dan dapat mengakibatkan aktivasi pada proses sekresi kemudian akan menyebabkan diare cair yang terlihat pada awal penyakit, ini adalah suatu tanda dari sifat enterotoksik shigatoksin. Kemudian, proses penyakit ini juga melibatkan usus besar dan invasi jaringan, pada aksi shigatoksin yang memperparah gejalanya. Terlihat efek dari enterotoksin shigatotoksin yaitu menghambat absorpsi elektrolit, glukosa, dan juga asam amino yang terdapat pada lumen intestinal (Dzen dkk., 2003).

*Shigella dysenteriae* memiliki toksin yang dibedakan menjadi dua, yaitu:

1. Endotoksin

Pada saat *Shigella* mengalami autolisis, maka akan mengeluarkan lipopolosakarida yang bersifat toksik. Endotoksin akan memperparah kerusakan atau iritasi pada dinding usus (Dzen dkk., 2003).

2. Eksotoksin (*S. dysenteriae*)

*S. dysenteriae* tipe 1 (basil *Shigella*) menghasilkan eksotoksin yang tidak tahan oleh pemanasan kemudian akan berpengaruh pada saluran pencernaan dan sistem saraf pusat. Eksotoksin ialah suatu protein yang memiliki sifat antigenik (merangsang produksi antitoksin) dan membunuh hewan percobaan. Zat ini apabila digunakan sebagai enterotoksin akan menyebabkan diare (Dzen dkk., 2003).

Terapi menggunakan rehidrasi yang adekuat melalui oral atau intravena, dilihat dari parahnya suatu penyakit tersebut. Derivat opiate harus dapat dihindari. Antibiotik yang dipilih sebagai infeksi *Shigella* yaitu ampicilin, kloramfenikol, sulfametoksazol-trimetoprim. Dari berbagai sumber yang telah ada juga menyebutkan kanamisin, streptomisin dan neomisin dapat digunakan sebagai antibiotik dari kasus-kasus infeksi *Shigella*. Permasalahan seperti resistennya kuman *Shigella* terhadap antibiotik dengan seluruh aspek yang ada bukanlah hal yang baru. *Shigella* yang sudah resisten dengan multiantibiotik (seperti *S. dysenteriae*) ditemukan pada seluruh dunia dan akibatnya pemakaian antibiotik ini tidak rasional lagi (Dzen dkk., 2003).

## 2.3 Disentri

### 2.3.1 Definisi Disentri

Disentri basiler adalah suatu penyakit infeksi pada usus yang diakibatkan karena adanya beberapa jenis basil gram negatif yang diperoleh dari Genus *Shigella*. Bakteri *Shigella dysentriae* memiliki masa inkubasi selama 1-7 hari. Beberapa gejala yang telah terpapar dari bakteri ini yaitu demam hampir 39° - 40°C, perut terasa nyeri, tenesmus dan terdapat darah maupun lendir pada diare (Tjay dkk., 2007) . Terdapat faktor hubungan yang memiliki resiko epidemik terhadap *Shigella* yaitu salah satunya sanitasi dan kebersihan yang kurang pada personal, tidak tersedianya air, malnutrisi, dan pertumbuhan penduduk yang semakin tinggi (Sukandar Dkk., 2013).

*Shigella sp* dapat dibagi menjadi 4 spesies menurut aspek biokimia dan serologi yaitu *S.dysentriae* (serogroup A), *S.flexneri* (Serogroup B), *S.boydii* (serogroup C) dan *S. sonnei* (serogroup D). *S. dysentriae* dapat menimbulkan disentri berat dibandingkan pada jenis *Shigella* yang lain. Bakteri ini juga dapat menghasilkan *Shigella* toksin yang kuat, menimbulkan penyakit tersebut bertahan lama, lebih parah maupun sampai fatal, dan juga dapat memberikan resistensi pada antibiotik (WHO, 2005).

### 2.3.2 Epidemiologi

Indonesia memiliki masalah kesehatan terhadap penyakit diare yang masih terbilang tinggi pada angka morbiditas dan mortalitasnya. Diare merupakan penyebab kematian yang sering dijumpai pada anak usia dibawah 5 tahun hampir 25,2% (Kemenkes, 2011). Diare di Indonesia pada sepanjang tahun 2016 memiliki angka kesakitan (morbiditas) hampir mencapai 6.897.463 dan yang telah tertangani sebanyak 2.544.084 atau 36,9% (Kemenkes, 2017). Dapat terlihat pada negara berkembang ini, penyebab dari penyakit diare yang terpenting dan sering dijumpai yaitu adanya bakteri *Shigella* atau dikenal *S.dysentriae* dan *S.boydi* yang dapat menimbulkan diare disentri (CDC, 2012). Disentri basiler dijumpai pada seluruh dunia dan memiliki tanggung jawab dengan angka kematian sebanyak 600.000 di setiap tahunnya, 2/3 kasus kematian ini berdampak pada anak-anak yang memiliki usia dibawah 10 tahun (WHO, 2005).



Penyakit ini umumnya dapat ditularkan dengan adanya interaksi *person-to-person infection*. Dapat juga terjadi pada makanan dan minuman yang telah terkontaminasi oleh adanya bakteri *Shigella sp.*, penggunaan air yang telah tercemar dan higienitas yang kurang (Shigellosis Investigation Guidelines, 2012).

Penyebab disentri basiler pada negara Amerika yang terlihat paling banyak yaitu jenis *Shigella sonnei* dengan jumlah hampir 75,2% dan penyebab kejadian yang terendah yaitu pada jenis *Shigella dysenteriae* dengan jumlah hanya 0,3% dari seluruh jumlah kasus disentri basiler (CDC, 2012). Kemudian ditahun 2012 dilaporkan bahwa pada umur rata-rata yang rentan dengan terpaparnya oleh disentri basiler yang diakibatkan *Shigella sonnei* yaitu pada umur 7 tahun dan angka tersebut hampir relative sama pada tahun ke tahun (CDC, 2012).

Penelitian yang telah dilakukan dari berbagai rumah sakit di Indonesia pada tahun 1998 sampai 1998, menyatakan bahwa hampir 3848 terdapat penderita diare berat dan hampir 5% tersebut di akibatkan karena adanya bakteri *Shigella sp.* (Subekti, 2001). Telah dilaporkan juga bahwa dari 29% penyebab kematian anak-anak pada usia 1 sampai 4 tahun diakibatkan karena diare yang terpapar oleh bakteri disentri basiler (Herwana dkk., 2010).

### **2.3.2 Etiologi**

Disentri basiler mudah ditemukan pada seluruh dunia. Disentri ini dapat tumbuh dan berkembang pada daerah yang berpenduduk padat dengan sanitasi yang sangat buruk. Disentri ini pula dapat disebarkan oleh adanya kontaminasi makanan maupun minuman dengan cara kontak langsung atau dapat juga melalui vektor seperti lalat. Faktor terbesar yang dapat memicu adanya disentri basiler ini yaitu tidak mencuci tangan dengan bersih sesaat setelah buang air besar (WHO, 2005).

### **2.3.3 Patogenesis**

Bakteri dapat menimbulkan infeksi peroral dengan cara masuk melalui lambung yang telah terkontaminasi terlebih dahulu melalui makanan maupun minuman, kemudian akan masuk dalam usus halus, pada colon bakteri akan ditangkap oleh epitel sehingga akan berkembang biak dan menyebabkan sel epitel mudah hancur yang akan menyebar pada lamina propia maka bakteri akan bereplikasi disini. Kemudian menimbulkan ulcer dan mikro abses mukosa kolon

di bagian terminal ileum. Pada bagian atas ulcer dapat terjadi nekrosis, perdarahan maupun pembentukan pseudomembrane. Pada akhirnya menyebabkan suatu reaksi inflamasi dan juga thrombosis kapiler. *Salmonella* memiliki perbedaan dengan *Shigella*, yaitu bakteri *Shigella* tidak dapat menyebar pada tempat lain. Dengan adanya pendarahan kecil dapat menimbulkan tinja berdarah dan berlendir namun tidak menyebabkan perforasi maupun peritonitis. Apabila telah sembuh, maka ulkus akan menutup oleh jaringan granula dan akan menyebabkan jaringan parut. Secara klinis pada orang yang telah sembuh, tinja yang awalnya positif dapat berubah menjadi karier (Fitrial dkk., 2008).

Memiliki masa inkubasi selama 2-4 hari atau dapat mencapai lebih lama hampir 1 minggu. Pada orang yang sehat memerlukan dosis 1000 bakteri *Shigella* yang dapat menyebabkan orang tersebut sakit. Untuk proses penyembuhannya dapat terjadi dengan waktu sekitar 2-7 hari yang sebelumnya sehat pada penderita dewasa, namun pada penderita yang masih sangat muda maupun tua dan juga penderita dengan kondisi gizi buruk penyakit ini akan berlangsung lebih lama. Terdapat pasien dengan septikemia dengan gizi buruk berakhir kematian karena paparan dari bakteri (Fitrial dkk., 2008).

*Shigellosis* merupakan disentri basiler, disentri dapat diartikan sebagai dari beberapa gangguan yang diawali dengan peradangan pada usus, terutama pada kolon juga dapat disertai dengan timbulnya rasa nyeri perut, tenesmus dan buang air besar yang disertai dengan darah dan mukus. Habitat dari bakteri disentri yaitu terdapat pada usus besar manusia, tempat tersebut merupakan pertumbuhan dari disentri basiler. Infeksi *S. dysenteriae* memiliki aktivitas yang terbatas hanya pada saluran pencernaan dan invasi bakteri yang jarang dapat masuk ke dalam darah. Bakteri ini dapat menyebabkan penyakit yang rentan sekali tertular, adanya dosis infeksi dari bakteri yaitu kurang dari 103 organisme dan golongan *Shigella sp.* yang memiliki kecenderungan resisten terhadap antibiotik (Ahmed dkk., 2008).

Proses yang terpenting pada patologi yaitu invasi epitel selaput lendir, mikroabses yang terdapat di dinding usus besar dan ileum terminal yang memiliki kecenderungan sehingga berakibat nekrosis selaput lendir, ulserasi superficial, pendarahan, pembentukan pseudomembran di daerah ulkus. Proses ini terdiri dari fibrin, leukosit, sisa sel, selaput lendir yang nekrotik dan bakteri. Apabila dari

proses patologik ini memiliki waktu yang kurang, maka jaringan granulasi dapat mengisi ulkus sehingga dapat membentuk jaringan parut (Ahmed dkk., 2008).

### **2.3.5 Manifestasi Klinis Disentri**

Diagnosis klinis dapat digunakan untuk kepentingan apabila telah ditemukannya tinja yang telah bercampur dengan darah. Sedangkan pada diagnosis etiologi masih terdapat kesulitan untuk digunakan. Penggunaan etiologi dapat digunakan hanya saja sebagai gambaran klinis semata, adapun pemeriksaan biakan tinja yang dilakukan untuk melihat agen penyebab, tetapi pada pemeriksaan ini jarang dilakukan karena memiliki waktu yang lama untuk melihat hasilnya yaitu minimal 2 hari dan sering kali gejala ini bisa membaik menggunakan terapi antibiotika empiris. Pemeriksaan penunjang dapat dilakukan:

1. Pemeriksaan Tinja
2. Biakan Tinja
3. Pemeriksaan darah secara rutin

### **2.3.6 Pengobatan**

Pada kasus yang ringan seringkali digunakan terapi yang biasanya disebut terapi suportif, yaitu dengan rehidrasi (Bush & Perez, 2014). Terapi tersebut digunakan karena adanya kejadian fatal yang besar pada kasus disentri basiler, disebabkan pada penderita yang mengalami dehidrasi karena diare (Ranjbar dkk, 2010). Pada ukuran kasus yang parah maupun pasien yang memiliki respon imun yang rendah, maka akan sangat dibutuhkan antibiotik yang digunakan sebagai penurunan durasi penyakit. Beberapa antibiotik yang digunakan untuk pada pengobatan disentri basiler yaitu siprofloksasin, azitromisin, dan ceftriaxone (Bush & Perez, 2014).

Kemudian pengobatan yang digunakan pada pasien dehidrasi yaitu dengan memberikan terapi cairan secara oral maupun intravena menyesuaikan tingkat keparahan dehidrasi tersebut. Obat-obatan untuk penanganan diare digunakan seperti loperamid, dengan kontraindikasi yang digunakan pada kasus disentri basiler untuk memperlama penyakit yang disebabkan bakteri, kemudian akan memberikan kontak yang lebih lama pada sel epitel usus sehingga kerusakan pada sel epitel tersebut semakin luas. Pemberian antibiotik dapat mengurangi gejala,

akan tetapi tidak dianjurkan pemakaiannya oleh pasien dewasa dengan kasus ringan (Bush & Perez, 2014). Dari berbagai macam jenis *Shigella* telah dilaporkan bahwa bakteri ini telah resisten pada antibiotik seperti ampicilin, kotrimoksazole, dan tetrasiklin (Bush & Perez, 2014).

## **2.4 Tinjauan Antibiotik**

Antibiotik merupakan suatu zat-zat kimia yang diperoleh dari fungi maupun bakteri, dan mempunyai khasiat yang dapat mematikan atau menghambat pertumbuhan dari kuman, tetapi memiliki toksisitas pada manusia sangat kecil. Turunan zat kimia ini pun diperoleh secara semi-sintesis, termasuk pada kelompok ini, senyawa sintesis memiliki khasiat sebagai antibakteri (Tjay dkk., 2007). Antibiotik ialah zat biokimia diperoleh dari produksi mikroorganisme, dengan jumlah kecil memungkinkan akan menghambat pertumbuhan atau membunuh berkembang biaknya mikroorganisme yang lain (Harmita dan Radji, 2008).

### **2.4.1 Penggunaan Antibiotik**

Indonesia, Pakistan dan India menyatakan pada hasil studinya bahwa sebanyak 70% pasien mendapatkan resep antibiotik. Begitu pula sebanyak 90% pasien juga mendapatkan suntikan antibiotik yang seharusnya tidak perlu digunakan. Di negara New Delhi juga mengemukakan hasil studi pendahuluan yang mereka lakukan pada persepsi masyarakat dan dokter untuk penggunaan antibiotik, dari 25% responden berhenti menggunakan antibiotik apabila pasien merasakan keadaan lebih baik, namun pada kenyataannya menghentikan penggunaan antibiotik dilakukan bukan pada waktu yang seharusnya, akan menimbulkan resistensi antibiotik yang digunakan (WHO, 2011).

Dimana 47% responden yang lain, akan mengganti dokter apabila dokter tersebut tidak memberikan antibiotik pada resep mereka, kemudian pada 18% responden yang mendapatkan antibiotik akan menyimpannya dan mungkin tidak menggunakannya lagi untuk keperluan sendiri maupun keluarganya, sedangkan pada 53% responden merasa bahwa dapat memilih antibiotik untuk mengobati dirinya sendiri apabila merasa sakit. Pada 16% dokter dapat meresepkan antibiotik pada pasien yang memiliki riwayat demam tidak spesifik, kemudian 17% dokter lainnya apabila pasien mengalami batuk maka perlu diberi antibiotik, hampir 18%

dokter juga meresepkan penggunaan antibiotik dengan kondisi diare pada pasien, terdapat 49% dokter lain memberikan antibiotic pada pasien dengan telinga yang bernanah. Apabila antibiotik digunakan secara berlebihan dapat menyebabkan terjadinya resistensi antibiotik (WHO, 2011).

#### 2.4.2 Penggolongan Antibiotik

Antibiotik dibedakan menjadi 2 kelompok yang dilihat dari spectrum atau kisaran kejadiannya, yaitu:

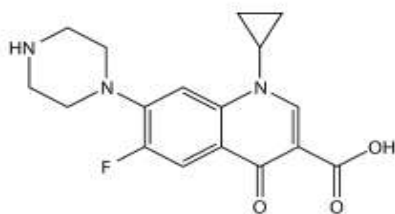
1. Antibiotik berspektrum sempit (*narrow spectrum*), merupakan antibiotik yang dapat menghambat beberapa segolongan jenis bakteri, seperti hanya dapat menghambat atau membunuh bakteri gram negatif saja. Beberapa antibiotik yang merupakan golongan ini yaitu penisilin, streptomisin, neomisin, dan basitrasin.
2. Antibiotik berspektrum luas (*broad spectrum*), merupakan antibiotik yang dapat bekerja untuk menghambat maupun membunuh bakteri pada golongan bakteri gram positif dan juga gram negatif. Antibiotik yang termasuk pada golongan ini yaitu tetrasiklin dan derivat nya ampicilin, sefalosporin, carbapenem dan lain-lain (Pratiwi, 2008).

#### 2.4.3 Siprofloksasin

Siprofloksasin adalah antibiotik yang memiliki spectrum luas (*broad spectrum*) yang sering digunakan, antibiotik ini merupakan jenis golongan dari florokuinolon dengan mekanisme kerja untuk menghambat DNA gyrase topoisomerase II dan topoisomerase IV yang dimiliki oleh bakteri. Dengan menghambat enzim yang terlibat pada proses replikasi ini, rekombinasi dan reparasi DNA akan mengakibatkan penghambatan dari pertumbuhan sel bakteri (Sarro, 2001).

Siprofloksasin dalam pengobatannya digunakan untuk bakteri Gram negatif, yaitu pada *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Klasiella sp*, *Shigella sp.*, *Enterobacter*, *Chlamydia sp*, *Salmonella sp*, dan *P. aeruginosa* maupun beberapa bakteri gram positif. Antibiotik ini memiliki mekanisme kerja yang dapat menghambat proses pembentukannya superkoil DNA yang berkaitan dengan enzim DNA gyrase sub unit A yang merupakan enzim terpenting pada proses replikasi dan perbaikan DNA. Antibiotik ini dapat resisten pada bakteri yang disebabkan karena adanya

mutase gen yang mengkode polipeptida sub unit A enzim DNA gyrase (Jawetz *et al.*, 2001).



**Gambar 2.3** Struktur Kimia Siprofloksasin (Jaeger *et al.*, 2019)

Cushnie and Lamb berpendapat bahwa senyawa flavonoid dapat mengikat peptidoglikan pada dinding sel bakteri yang kemudian akan menyebabkan pengendapan protein sehingga dapat menghambat proses biosintesis peptidoglikan dan juga menghambat DNA gyrase. Senyawa alkaloida bekerja dengan merusak sintesis dinding sel yang akan menyebabkan sel akan menjadi lisis (Cushnie & Lamb, 2005).

#### 2.4.4 Resistensi Bakteri

Resistensi antimikroba (AMR) merupakan mikroorganisme bakteri, virus, dan beberapa parasit yang dapat menghentikan antimikroba (antibiotika, antivirus, dan antimalaria) sesuai dengan mekanisme dari kerjanya. Apabila antibiotika digunakan berlebihan maka dapat menimbulkan munculnya mikroorganisme yang kebal terhadap antibiotik kemudian dapat mengakibatkan menurunnya aktivitas dari antibiotik tersebut. Infeksi yang muncul dikarenakan mikroorganisme telah kebal dengan berbagai macam antibiotik dapat menimbulkan peningkatan angka kesakitan maupun angka kematian, maka dari itu antibiotik sangat diperlukan sebagai pilihan kedua maupun pilihan ketiga, karena dalam hal efektifitasnya lebih kecil dan memungkinkan memiliki efek samping yang lebih banyak dan juga biaya yang lebih mahal dibandingkan dengan pengobatan standar (Hadi, 2008).

Resisten dapat dikatakan apabila bakteri tidak dapat menghambat pertumbuhannya apabila telah diberikan antibiotik dengan kadar maksimum yang dapat ditolerir oleh penjamu. Adanya resistensi ini dapat disebabkan dari penggunaan antibiotik dengan cara tidak rasional dan tidak hati-hati pada keadaan yang mungkin tidak memerlukan pengobatan antibiotik maupun yang dapat sembuh tanpa adanya antibiotik (WHO, 2018).



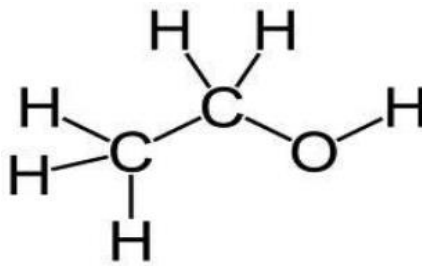
Mikroorganisme dapat mampu melawan antimikroba dengan melihat aspek biokimia dan juga dari genetik yang terdapat pada strain. Dari berbagai macam mekanisme resistensi yang terdapat pada antibiotik seperti halnya tergantung pada strain bakteri, sifat antibiotik, situs target dan juga resistensi tersebut. Paling umum yang ditemukan pada mekanisme resistensi yaitu melibatkan inaktivasi antibiotik menggunakan enzim kemudian dapat menurunkan atau memodifikasi obat dengan hidrolisis, transfer kelompok maupun mekanisme redoks (Das, 2017).

## 2.5 Tinjauan tentang Pelarut

Pelarut yang akan digunakan pada proses ekstraksi harus dipilih berdasarkan kemampuannya yang dapat melarutkan dengan sempurna sehingga dapat memberikan jumlah maksimal pada zat aktif dan juga dapat melarutkan unsur yang tidak diinginkan (Ansel, 1989). Pelarut organik dapat dibedakan menjadi dua menurut konstanta dielektrikunya antara lain pelarut polar dan pelarut non-polar. Semakin tinggi konstanta dielektriknya maka dapat dikatakan pelarut tersebut memiliki sifat lebih polar (Sudarmadji dkk., 1989).

Pada umumnya pelarut organik yang biasanya digunakan untuk memproduksi konsentrat, ekstrak, absolut atau minyak atsiri dari bunga, daun, biji, akar, dan bagian lain dari tanaman yaitu etil asetat, *n*-heksan, petroleum eter, benzene, toluene, etanol, isopropanol, aseton, dan air (Mukhopadhyay, 2002).

Etanol atau dapat juga disebut etil alkohol ( $C_2H_5OH$ ) ialah suatu kelompok alkohol memiliki kandungan gugus hidroksil ( $-OH$ ) dengan rumus molekul yang berikatan pada atom karbon, gugus ini dapat memberikan suatu polaritas pada molekul dan juga terhadap ikatan hidrogen antarmolekul. Spektrografi infra merah memberikan hasil yang pada keadaan cair ikatan hidrogen akan membentuk karena adanya tarik-menarik antara atom hidrogen yang terdapat pada gugus hidroksil molekul satu dengan atom hidrogen pada gugus hidroksil molekul kedua. Etanol mempunyai sejumlah dua atom karbon dan juga terdapat nilai kepolaran 0,68. Etanol juga memiliki berat molekul sejumlah 46 dan memiliki titik didih  $78,5^{\circ}C$ , titik leleh  $-114,1^{\circ}C$  dan densitas  $0,789 \times 10^{-3} \text{ kg/m}^3$  (Wiratmaja, 2011).



**Gambar 2.4** Struktur Kimia Etanol

Etanol merupakan suatu larutan yang jernih, tidak memiliki warna, mempunyai volatil dan bau yang khas. Etanol yaitu suatu cairan yang mempunyai sifat polar, universal, mudah didapat, selektif, tidak memberikan efek toksik dan ekonomis. Penyarian yang menggunakan pelarut etanol dapat menarik senyawa yang memiliki sifat polar yang terdapat dalam simplisia seperti kandungan senyawa flavonoid, saponin, dan tanin. Etanol digunakan sebagai cairan penyari karena cara kerjanya yang dapat menembus dinding sel dan juga masuk pada rongga sel yang memiliki kandungan zat aktif kemudian akan larut pada cairan penyari. Terdapat perbedaan konsentrasi yang dimiliki oleh zat aktif di dalam sel dengan yang terdapat diluar sel kemudian dapat mengakibatkan larutan yang pekat akan dipaksa keluar. Peristiwa tersebut dapat diulang sampai memiliki keseimbangan antara larutan didalam maupun diluar sel (Rachmania, 2017).

## **2.6 Kromatografi Lapis Tipis**

Kromatografi Lapis Tipis adalah proses pemisahan dengan menggunakan teknik adsorben (fase stasioner) yaitu lapisan tipis yang seragam kemudian dibalutkan pada permukaan bidang datar yaitu berupa lempeng kaca, pelat alumunium, atau pelat plastik. Teknik kromatografi telah sering dilakukan sebagai analisis kualitatif senyawa organik, isolasi senyawa tunggal pada campuran multikomponen, analisis kuantitatif, dan isolasi berskala prepratif (Mukhriani, 2014; Hajnos dkk., 2008)

Pada proses KLT sorbent yang digunakan mempunyai karakteristik permukaan yang berbeda dan sifat fisikokimia yang berbeda. Kromatografi dapat berkembang saat fase gerak tertapis melewati adsorben (Deinstrop, 2007). KLT digunakan apabila:

1. Senyawa tidak mampu menguap maupun menurunnya tingkat penguapan

2. Senyawa memiliki sifat polar, semi polar, non-polar, atau ionik.
3. Sampel dengan jumlah yang banyak dapat dilakukan analisis secara simultan, mengeluarkan biaya yang sedikit dan pada jangka waktu tertentu.
4. Sampel pada proses analisis dapat merusak kolom pada Kromatografi Cair (KC) maupun Kromatografi Gas (KG)
5. Pelarut terpilih yang akan digunakan dapat mengganggu proses penjerap pada kolom Kromatografi Cair.
6. Senyawa pada sampel untuk digunakan proses analisis tidak terlihat pada pendeteksi menggunakan metode KC maupun KG atau mempunyai kesulitan yang tinggi.
7. Apabila proses kromatografi telah selesai, selanjutnya seluruh komponen pada sampel akan dideteksi (untuk mengetahui nilai  $R_f$ ).
8. Komponen yang terdapat pada campuran dari suatu senyawa akan dilakukan proses deteksi secara terpisah setelah melewati pemisahan atau dilakukan deteksi menggunakan berbagai macam metode dengan bergantian (contohnya pada drug screening).
9. Tidak diperlukan sumber listrik.

Kromatografi lapis tipis pada proses analisis senyawa digunakan dengan melihat nilai  $R_f$  (*Retention factor*). Dengan adanya posisi noda yang terlihat akan menghasilkan senyawa (spot) pada kromatografi lapis tipis yang akan menjelaskan menggunakan faktor retardasi.  $R_f$  merupakan hasil bagi dari jarak antara zona zat dan garis start pada jarak antara pelarut dan garis start. Pada senyawa aktif yang akan dianalisis mempunyai nilai  $R_f$  berbeda-beda. Nilai  $R_f$  dalam perhitungan yaitu  $\leq 1$ , diawali dengan 0 dan diikuti dengan angka desimal (Deinstrop, 2007).

### 2.6.1 Fase Diam

Fase diam adalah suatu komponen penting pada proses teknik pemisahan kromatografi lapis tipis. Fase diam terbentuk dari lapisan tipis yang seragam akan disalutkan pada permukaan bidang yang datar seperti lempeng kaca, pelat alumunium, ataupun plat plastik. Fase diam pada kromatografi lapis tipis dapat menggunakan suatu plat dengan adanya partikel yang homogen maupun berpori (Mukhriani, 2014).

Pelarut akan berjalan ke atas plat (fase diam) kemudian akan terdapat noda sampel yang akan mengikat diatas pelarut tersebut. Pelarut yang polar akan memberikan komponen noda yang dekat dengan garis start. Sedangkan pada komponen yang kurang polar dapat memberikan noda yang jauh dari garis start (Deinstrop, 2007).

Silika atau silika gel merupakan salah satu fase diam yang sering digunakan pada proses teknik kromatografi. Silika gel sebagai fase diam digunakan karena mempunyai karakteristik adsorpsi yang kuat. Silika gel juga dapat digunakan untuk pengering karena memiliki sifat menyerap dari berbagai macam zat. Silika merupakan bentuk koloid yang telah dipolimerisasi asam silikat. Asam silikat,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  tidak terdapat pada monomer bebas akan tetapi terdapat pada bentuk larutan natrium silikat. Apabila larutan natrium silikat ini dibentuk asam maka dapat membentuk polimer silika polimer. Silika yang akan digunakan pada proses kromatografi akan melewati proses pemurnian agar dapat menghilangkan kotoran logam yang selanjutnya akan dilumatkan, dikeringkan dan juga difraksinasi dengan ukuran partikel yang sesuai (Gandjar & Rohman, 2007).

Silika mempunyai luas permukaan antara  $200\text{-}800 \text{ m}^2/\text{g}$ . dengan luas permukaan yang besar, silika dapat mempunyai struktur yang berpori. Pada teknik pemisahan kromatografi diameter pori yang akan memberikan hasil terbaik yaitu  $60\text{-}150 \text{ \AA}$  (satu angstrom adalah  $10^{-10} \text{ m}$ ). pada proses KLT dengan teknik pemisahan senyawanya dapat digunakan plat silica gel GR, GF<sub>254</sub> R, HF<sub>254</sub> R dll. Plat silika gel tersebut mempunyai ketebalan lapisan  $0,25 \text{ mm}$  atau  $0,5 \text{ mm}$  dengan ukuran maksimum pelat KLT yang digunakan adalah  $20 \times 20 \text{ cm}$  (Deinstrop, 2007; Gandjar & Rohman, 2007).

### **2.6.2 Fase Gerak**

Fase gerak ialah suatu zat yang akan terbawa pada komponen suatu campuran melewati fase diam. Fase gerak pada KLT memiliki sifat lebih nonpolar dibandingkan dengan fase diam dari pelarut organik. Beberapa tujuan dari fase gerak, yaitu:

1. Dapat menjaga analit pada larutan
2. Mengangkut analit melewati fase diam
3. Berkontribusi pada pemisahan

4. Bersaing dengan analit pada proses adsorpsi dalam fase diam. Apabila fase diam yang digunakan merupakan suatu adsorben polar maka dapat menggunakan fase gerak non polar. Kekuatan pada fase gerak dapat dilihat dari polaritas suatu pelarut yang akan digunakan maupun kepolaran dari pelarut yang digunakan (Hansen dkk., 2012).

### 2.6.3 Uji Kepekaan Terhadap Antibakteri

Uji kepekaan mikroba memiliki tujuan yaitu dapat memberikan data in vitro tentang ketepatan dan kemampuan suatu antimikroba dalam pengobatan agar dapat memberikan jaminan dalam pengobatan yang optimal. Menurut Hajnos (2008) terdapat 3 cara yang digunakan untuk melakukan uji kepekaan terhadap obat anti bakteri, yaitu:

- a. Metode dilusi
- b. Metode difusi cakram
- c. Bioautografi.

#### 1) Metode Dilusi

Metode dilusi merupakan suatu metode yang dilakukan untuk melihat potensi dari suatu senyawa terhadap aktifitas dari mikroba yang ditentukan pada Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM). KHM dan KBM ini dapat ditentukan dengan adanya perlakuan menggunakan metode dilusi cair Kirby and Bauer yang telah dimodifikasi dengan media cair Nutrient Broth (NB) dan juga mengukur absorbansi pada spektrofotometer UV-Vis sebelum dan sesudah inkubasi agar dapat melihat pertumbuhan jamur yang diuji (Fatisa, 2013).

Prinsipnya yaitu pada penggunaan satu seri tabung reaksi yang telah diisi dengan media cair dan sel mikroba yang akan diuji pada jumlah tertentu. Kemudian dari tabung reaksi tersebut diuji menggunakan obat yang sebelumnya telah diencerkan secara serial, kemudian masing-masing tabung reaksi dapat diukur absorbansinya (Optical Density = OD) jamur pada penggunaan spektrofotometer UV-Vis ( $\lambda = 480 \text{ nm}$ ). Kemudian tabung reaksi ini akan diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$  dalam inkubator. Setelah proses inkubasi, dapat mengukur kembali absorbansi jamur menggunakan spektrofotometer UV-Vis ( $\lambda = 480 \text{ nm}$ ). KHM dapat ditentukan pada

perbandingan absorbansi perlakuan inkubasi dikurang dengan absorbansi sebelum perlakuan. Nilai KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) memiliki variasi dan bergantung dengan kondisi inkubasi, media pertumbuhan jamur, jenis kultur yang digunakan, dan juga proses dari pertumbuhan jamur yang diteliti (Azrifitria dkk., 2010; Fatisa, 2013).

## **2) Metode Difusi Cakram**

Metode difusi cakram yaitu teknik mikrobiologi klasik yang telah banyak dilakukan untuk uji kepekaan antimikroba. Metode difusi cakram lebih banyak digunakan karena lebih aman, murah juga efisien. Metode ini dapat dilakukan dengan cara meletakkan cakram kertas yang sebelumnya telah direndam menggunakan larutan uji diatas media padat yang telah diinokulasi terlebih dahulu dengan mikroba uji. Akan terbentuknya zona bening pada daerah sekitar cakram sebagai inokulasi dari pertumbuhan mikroba. Terdapat adanya zona bening yang dibentuk dalam media yang telah diinokulasikan mikroba pada sekitar cakram kertas dengan mencelupkan sampel dapat memberikan aktivitas penghambatan pada sampel terhadap mikroba uji (Choma, 2010; Ngaisah, 2010).

Proses pencelupan cakram kertas pada larutan sampel sampai seluruh permukaan cakram kertas terbasahi dengan merata. Cakram akan dicelupkan dengan larutan sampel sampai seluruhnya terbasahi dengan merata menggunakan berbagai macam konsentrasi yang telah disiapkan. Pada konsentasi yang rendah pada sampel yang telah mampu untuk menghambat pertumbuhan mikroba uji disebut dengan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Dengan dituangkan media Nutrient Agar (NA) yang telah disterilkan pada pertidish. Agar-agar dapat mengandung berbagai macam bahan seperti (berat/volume): 30,0% infus daging sapi; 1,75% kasein hidrolisat; 0,15% tepung; agar agar 1,7%; pH yang menyesuaikan kondisi netral pada suhu 25°C (Choma, 2010; Ngaisah, 2010).

Media Nutrient Agar (NA) yang telah dingin dan memadat kemudian akan ditanami jamur. Jamur yang akan ditanam harus merata sampai semua permukaan. Nutrient Agar (NA) dilakukan dengan menggunakan spreader. Selanjutnya cakram akan diletakkan pada media Nutrient Agar (NA) yang sebelumnya telah ditanami jamur. Berikutnya cakram tersebut akan diinkubasi yang dilakukan selama 24 jam dengan suhu 37°C. adanya hambatan pertumbuhan pada daerah



masing-masing cakram dapat diukur dengan skala millimeter. Dapat terlihat pada aktivitas antijamur terbesar yaitu dengan adanya luas diameter zona bening yang dibentuk dengan konsentrasi tersebut. Konsentrasi yang kecil pada sampel dapat mampu menghambat jamur yang diinokulasikan dengan adanya pembentukan zona bening merupakan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari sampel tersebut (Ngaisah, 2010).

**Tabel II.1 Kategori daya hambat bakteri (David Stout, 1971)**

<b>Daya hambat bakteri</b>	<b>Kategori</b>
$\geq 20$ mm	Sangat kuat
10-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
$\leq 5$ mm	Lemah

### 3) Bioautografi

Bioautografi ialah suatu metode yang dapat dilakukan dengan tujuan untuk mendeteksi aktivitas dari suatu bakteri, antiviral, dan antijamur. Goodal dan Levi yang telah melakukan percobaan pertama kali pada metode ini untuk melihat komposisi dan kemurnian antibiotik penisilin pada suatu campuran. Menurut Choma (2010) terdapat beberapa hal yang perlu diperhatikan saat dilakukannya metode ini, yaitu:

- Komposisi media
- Mikroorganisme yang diuji
- pH
- Waktu inkubasi
- Pewarnaan

Teknik bioautografi ini dapat dibagi menjadi 3 diantaranya bioautografi langsung, bioautografi kontak, dan bioautografi celup. Teknik bioautografi dengan kontak senyawa uji atau antibiotik, akan dipindahkan pada lapisan adsorben ke agar plat yang kemudian akan diinokulasikan langsung dengan mikroba secara kontak langsung. Zat uji dapat berdifusi kedalam media agar yang kemudian akan

menghambat pertumbuhan mikroba apabila telah mencapai waktu selama 15-30 menit (Choma, 2010).

Teknik bioautografi dengan metode celup, plat kromatografi akan dikembangkan dan tertutupi oleh media agar. Kemudian plat kromatografi tersebut memadat dan selanjutnya ditanamkan pada mikroba yang akan menghambat pertumbuhan mikroba dapat divisualkan. Sedangkan teknik bioautografi dengan metode langsung, seluruh proses pemisahan, inkubasi bening, prasyarat, dan visualisasi dapat digunakan dengan lapisan adsorben. Teknik bioautografi memiliki prinsip yaitu suspensi atau larutan mikroorganisme yang telah tumbuh akan diaplikasikan pada plat kromatografi yang sebelumnya telah dikeringkan. Selanjutnya plat kromatografi ini akan diinkubasi menggunakan suhu yang optimum sehingga mikroorganisme dapat tumbuh dan berkembang. Proses berikutnya yaitu proses visualisasi menggunakan bantuan pewarna yang apabila sel mikroorganisme ini dapat menyerap pewarna akan memberikan maupun timbulnya warna. Adanya warna ini dapat disebabkan karena dihidrogenase pada mikroorganisme hidup yang mengubah garam tetrazolium, menjadi korosi dengan intensif yaitu formazan yang akan menyerap zat (Choma, 2010).

## **2.7 Tinjauan Skrining Fitokimia**

Fitokimia atau dapat juga disebut fitonutrien yaitu seluruh zat kimia maupun nutrient yang diturunkan oleh tumbuhan, sayuran maupun buah-buahan. Berbagai macam bahan kimia ini dapat diproduksi pada tumbuhan dengan tujuan tertentu salah satunya sebagai metabolit sekunder. Metabolit sekunder tanaman ialah suatu bahan yang bersifat non esensial yaitu kepentingan hidup tanaman yang memiliki fungsi agar dapat berkompetisi dengan makhluk hidup lainnya. Pada tanaman dapat memproduksi berbagai macam metabolit sekunder seperti alkaloid, terpenoid, isoprenoid, flavonoid, glukosida, glukosinolat, dan asam amino bukan protein (Kristanti, 2008).

Skrining fitokimia ialah suatu analisis kualitatif terhadap senyawa-senyawa yang merupakan metabolit sekunder. Ekstrak yang didapat pada bahan alam memiliki berbagai macam metabolit sekunder yang berperan pada aktivitas biologinya. Senyawa-senyawa ini dapat diidentifikasi menggunakan suatu

pereaksi yang akan memberikan suatu ciri pada setiap golongan dari metabolit sekunder, dapat juga digunakan untuk menentukan golongan senyawa kimia dengan cara uji warna menggunakan suatu pereaksi yang spesifik karena cara tersebut lebih sederhana (Harborne, 1987).

Penelitian tumbuhan yang digunakan untuk aktivitas biologi maupun senyawa yang bermanfaat pada pengobatan, apabila terdapat satu atau lebih konstituen yang memiliki respon farmakologi maka dapat diisolasi. Sehingga pada pemeriksaan fitokimia dengan menggunakan teknik skrining dapat membantu proses dalam fitofarmakologi yaitu melewati seleksi awal pada pemeriksaan tumbuhan tersebut agar dapat dibuktikan bahwa ada maupun tidaknya senyawa kimia tertentu yang terkandung pada tumbuhan tersebut yang kemudian akan dikaitkan pada aktivitas biologinya (Farnsworth, 1996).

### **2.7.1 Uji Alkaloid**

Alkaloida merupakan suatu senyawa dari bahan alam yang memiliki atom nitrogen dan bersifat basa dari strukturnya. Nama alkaloid berawal dari kata alkalin yang menjelaskan tentang berbagai nitrogen dengan memiliki sifat basa. Alkaloida didapatkan pada berbagai macam makhluk hidup seperti bakteri, jamur, tumbuhan, dan binatang. Beberapa alkaloid memungkinkan dipurifikasi maupun diurnikan pada ekstrak kasarnya menggunakan metode ekstraksi asam basa. Alkaloid ini dapat dideteksi dengan menggunakan metode skrining fitokimia, terdapat dua jenis reaktan yang dimiliki yaitu presipitasi (tes pengendapan) dan spray (tes dengan penyemprotan) (Hayati dkk., 2010).

Pada uji alkaloid digunakan metode Mayer, Wagner, dan Dragendorff. Sampel diambil sebanyak 3 ml kemudian diletakkan pada cawan porselin selanjutnya tambahkan sebanyak 5 ml HCl 2 N, aduk hingga dingin pada keadaan suhu ruangan. Selanjutnya sampel yang telah dingin ditambahkan 0,5 g NaCl kemudian diaduk dan disaring. Setelah diperoleh filtrat kemudian akan ditambahkan HCl 2 M sejumlah 3 tetes, dari filtrat tersebut akan dibagi menjadi 4 bagian A, B, C, D. filtrat A digunakan untuk blanko, filtrat B akan diberi pereaksi Mayer, sedangkan filtrat C akan diberi pereaksi Wagner, kemudian untuk filtrat D akan dilakukan uji penegasan. Pada identifikasi uji alkaloid dengan penambahan pereaksi Mayer dan Wagner bila terbentuk endapan maka hasil menunjukkan

positif alkaloid. Sedangkan pada uji penegasan perlu adanya penambahan ammonia 25% ke dalam filtrat D hingga mencapai pH 8-9, proses selanjutnya yaitu penambahan kloroform yang kemudian akan diuapkan diatas waterbath, dengan penambahan HCl 2 N dengan proses pengadukan dan penyaringan. Setelah proses penyaringan diperoleh filtrat yang akan dibagi menjadi 3 yaitu filtrat A digunakan sebagai blanko, filtrat B akan diuji dengan penambahan pereaksi Mayer, pada filtrat C diuji dengan penambahan pereaksi Dragendorff. Apabila terdapat endapan pada filtrat maka hasil tersebut dikatakan positif mengandung alkaloid (Harborne, 1987).

### 2.7.2 Uji Flavonoid

Flavonoid ialah suatu metabolit sekunder tumbuhan yang sering dikenal sebagai antioksidan, akan tetapi dengan berkembangnya ilmu pengetahuan flavonoid ini juga dapat digunakan sebagai obat kanker dan sakit jantung. Flavonoid juga sering dikenali sebagai bioflavonoid sebab bagian terbesar dari flavonoid ini terdapat pada bahan biologi atau hayati (Cowan, 1999).

Pada uji flavonoid ini dilakukan dengan cara ambil sebanyak 3 ml ekstrak eter yang akan diuapkan kemudian dicuci menggunakan heksana sampai jernih. Residu yang diperoleh dilarutkan pada etanol sebanyak 20 ml kemudian saring. Setelah diperoleh filtrat kemudian akan dibagi menjadi 3 yaitu A, B, C. filtrat A digunakan sebagai blanko, filtrat B diberi tambahan HCl pekat sebanyak 0,5 ml selanjutnya dipanaskan di atas penangas air, apabila terjadi perubahan warna merah tua sampai ungu menunjukkan hasil yang positif (metode Bate Smith-Metchalf). Sedangkan pada filtrat C akan ditambahkan HCl dan logam Mg sebanyak 0,5 ml selanjutnya diamati perubahan warna yang terjadi (metode Wilstater). Senyawa flavon akan memberikan hasil dengan perubahan warna merah sampai jingga, kemudian pada flavonol atau flavonon akan memberikan hasil dengan perubahan warna merah tua, sedangkan aglikon atau glikosida akan memberikan hasil dengan perubahan warna menjadi hijau sampai biru (Hayati dkk., 2010).

Pada uji Analisa KLT digunakan dengan fase gerak asam asetat glacial: butanol: air (1:4:5) menggunakan penampak noda uap ammonia. Hasil positif yang ditunjukkan apabila reaksi membentuk noda berwarna kuning coklat yang

telah diuapkan menggunakan ammonia dalam proses pengamatan menggunakan sinar tampak dan akan muncul warna biru pada UV 365 nm menunjukkan adanya kandungan flavonoid (Hayati dkk., 2010).

### 2.7.3 Uji Steroid/Triterpenoid

Pada uji steroid/terpenoid diambil dalam beberapa jumlah sampel yang akan dilarutkan pada kloroform sebanyak 2 ml dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan sebanyak 10 tetes anhidra asetat dan 2 tetes H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat. Apabila terlihat adanya perubahan warna jingga dan ungu dapat dikatakan bahwa sampel tersebut memiliki senyawa triterpenoid, yang kemudian akan muncul warna biru dan hijau, perubahan warna ini menunjukkan bahwa adanya reaksi yang positif terhadap kandungan senyawa steroid (Nohong, 2009).

Pada uji Analisis KLT dengan menggunakan fase gerak yaitu kloroform-metanol (9:1), dan diberikan penampak noda pereaksi Liberman-Buchard diikuti dengan pemanasan menggunakan suhu 105°C selama 5 menit. Hasil yang memberikan reaksi tersebut positif yaitu terdapat nodaberwarna hijau biru (Kristanti, 2008).

### 2.7.4 Uji Antrakinon

Uji antrakinon merupakan suatu golongan dari kuinon fenolik dengan biosintesisnya terdapat pada turunan fenol. Senyawa golongan kuinon ini banyak terdapat di berbagai alam dan memiliki sifat senyawa yang sangat reaktif. Kuinon ialah suatu cincin aromatik dengan substitusi dua keton. Bertanggung jawab terhadap reaksi warna menjadi coklat pada sayuran dan buah-buahan dan digunakan untuk perantara melanin pada jalur sintesis di daerah kulit manusia. Kuinolon memiliki ketersediaan sumber radikal bebas yang stabil dan juga merupakan ireversibel kompleks nukleofilik asam amino pada protein yang dapat menyebabkan inaktivasi protein juga menghilangkan fungsinya agar besar potensi kuinolon sebagai efek antimikroba (Cowan, 1999).

Terdapat aktivitas antimikroba pada kandungan kuinon yang cukup banyak, kuinon ini juga dapat membentuk kompleks dengan asam amino nukleofilik pada protein yang kemudian dapat menyebabkan hilangnya fungsi bentuk protein tersebut. Senyawa kuinon juga dapat bereaksi dengan protein adesi bulu-bulu sel,

polipeptida dinding sel, dan melepaskan eksoenzim melalui membrane (Kristanti, 2008).

#### **2.7.5 Uji Polifenol**

Polifenol merupakan suatu kelompok zat kimia yang terdapat pada tumbuhan. Zat ini memiliki ciri yang khas seperti gugus fenol dengan jumlah yang banyak pada molekulnya. Senyawa fenol yang terdapat pada tanaman dapat dibagi menjadi 3 kelompok besar yaitu asam fenol, flavonoid dan tanin (Kristanti, 2008).

#### **2.7.6 Uji Tanin**

Pada uji tannin diambil sejumlah ekstrak kemudian dididihkan menggunakan air sebanyak 20 ml, saring setelahnya. Filtrat ditambahkan feriklorida 1% beberapa tetes yang kemudian akan membentuk warna coklat kehijauan atau biru kehitaman yang memberikan hasil positif terkandung senyawa tannin (Endeoga dkk., 2005). Selanjutnya pada uji Analisis KLT menggunakan fase gerak methanol:air (6:4) dan digunakan penampak noda pereaksi  $\text{FeCl}_3$  5 %. Adanya noda berwarna hitam menunjukkan hasil yang positif terhadap reaksi tersebut (Banu & Nagarajan, 2014).

